

## Конъюгаты полигалактуроновой кислоты с фармакозначимыми аминами

Тимофеева Д.И.,\* Понеделькина И.Ю.

Институт нефтехимии и катализа РАН, Проспект Октября, 141, г. Уфа. Факс(347)2842750; тел (347)2842750; E-mail: salinger@mail.ru

Синтезированы конъюгаты полигалактуроновой кислоты с рядом фармакозначимых аминов, охарактеризованы методами ЯМР-спектроскопии и содержанием модифицированных звеньев.

### Введение

Полигалактуроновая (пектиновая) кислота (ПГК) относится к растительным полисахаридам, содержится во многих фруктах и овощах (10-25% от сухой массы), молодых растительных тканях (0.5-50%)<sup>1</sup>. Высокомолекулярные ПГК, в которых небольшая часть карбоксильных групп этерифицирована метиловым спиртом, носят название пектиновых веществ. В чистом виде ПГК выделяют щелочным или энзиматическим гидролизом пектиновых веществ.

В медицине ПГК применяют в качестве кровоостанавливающего и ранозаживляющего средства, заменителя плазмы крови, на ее основе создан ряд лекарственных препаратов для выведения тяжелых металлов из организма («Яблопект»<sup>2</sup>, «Медетопект»<sup>3</sup>), лечения болезней желудочно-кишечного тракта («Плантаглюцид»<sup>4</sup>).

Химическая модификация фармакозначимыми аминами может придать ПГК дополнительные полезные свойства: противоопухолевые, противовоспалительные, антимикробные и др. При

этом могут значительно измениться физико-химические и биологические свойства полисахаридов. Это позволяет существенно расширить области применения производных ПГК как в качестве самостоятельных лекарственных препаратов, так и в качестве адъювантов.

### Результаты и обсуждение

Новые производные ПГК – конъюгаты с фармакозначимыми аминами были синтезированы действием водоотнимающего реагента 1-этил-3-[3-(диметиламино)пропил]карбодиимида на смесь ПГК с аминами, H<sub>2</sub>O, pH 4.7-4.8 (схема 1). Для конъюгации были использованы следующие амины: *n*- (1a) и *o*-аминофенолы (1b), 5- (1c) и 4-аминосалициловые (1d), антраниловая (1e) и *n*-аминобензойная (1f) кислоты, 1-фенил-2,3-диметил-4-аминопиразолон-5 (4-аминоантипирин) (1g).

Содержание амидных звеньев в конъюгатах 2a-g было определено методом ЯМР-спектроскопии из соотношения приведенных к одному протону интенсивностей сигналов ароматических протонов и

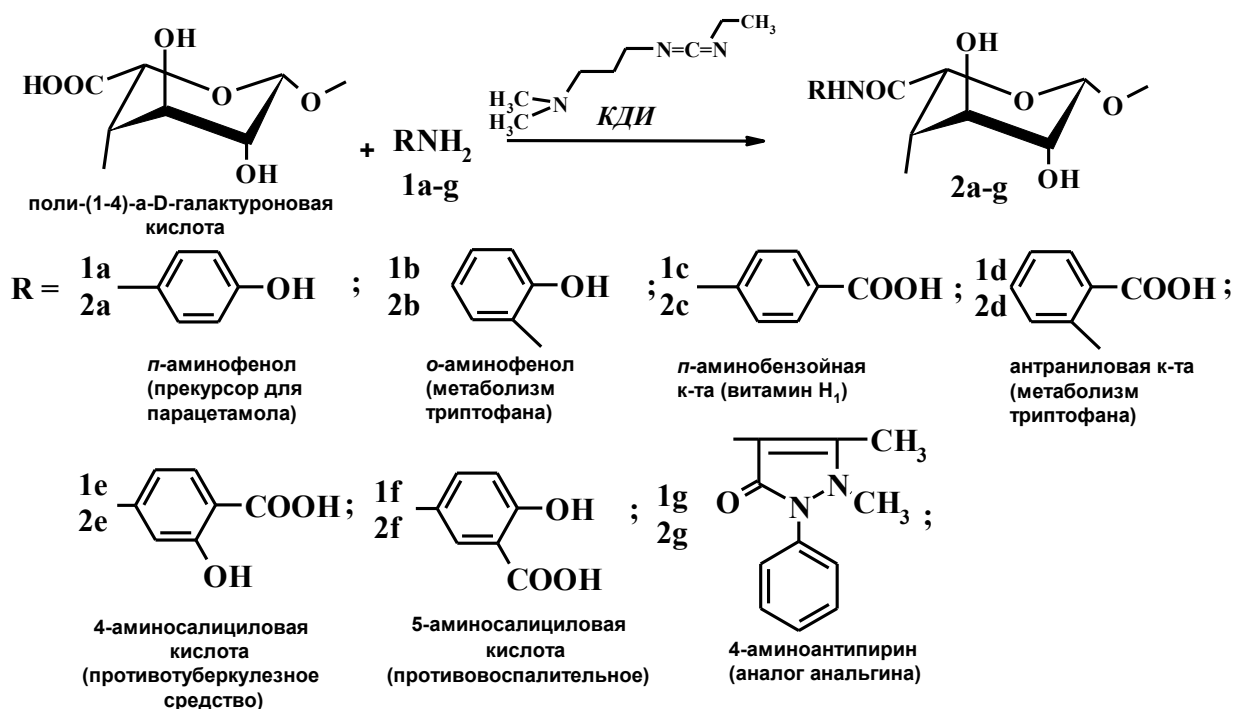


Схема 1. Конъюгаты ПГК с аминами 1a-g

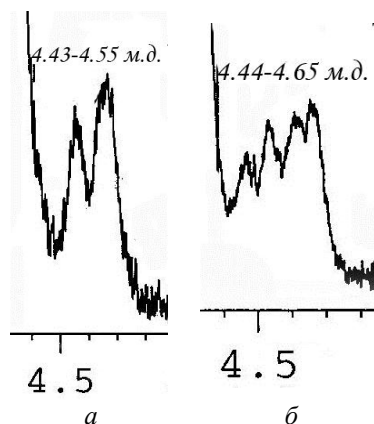
сигналов Н-2 ( $\delta$  3.82 м.д.) или Н-3 ( $\delta$  4.03 м.д.) галактопиранозильного фрагмента. Эти сигналы были использованы в качестве внутреннего стандарта, поскольку их положение не изменилось по сравнению с соответствующими сигналами исходной ПГК (табл. 2).

**Табл. 1.** Содержание модифицированных звеньев в конъюгатах 2a-g

Конъюгат	Содержание модифицированных звеньев в зависимости от соотношения реагентов ПГК:1a-g:КДИ	
	1:0.5:0.5	1:1:0.75
2a	50	61
2b	50	62
2c	30	37
2d	45	53
2e	37	39
2f	44	62
2g	40	75

Для конъюгатов 2a-e содержание модифицированных звеньев мало зависело от соотношения реагентов и составило 30-62%. Наибольшую реакционную способность проявил 4-аминоантипирин 1g (табл. 1).

Аналогично этерифицированной ПГК (т.е. пектину)<sup>5</sup>, наиболее чувствительными к модификации по карбоксигруппе ПГК оказались сигналы протонов Н-4 и Н-5 (табл. 2). Причем расщепление этих сигналов зависело от природы заместителей. Например, для конъюгата 2a (с п-аминофенолом), в области с  $\delta$  4.43-4.70 м.д. сигнал протона Н-4 был представлен двумя сигналами, в то же время аналогичный сигнал для конъюгата 2b состоял из четырех сигналов разной интенсивности, смещенных в более слабое поле по отношению к сигналу Н-4 немодифицированного звена ( $\delta$  4.46 м.д.) (рис. 1). По-видимому, сложная структура сигнала Н-4 объясняется влиянием полярного орто-заместителя в бензольном кольце, оказывающего затормаживающее действие на вращение фенила вокруг С-Н связи.



**Рис. 1.** Область сигнала Н-4 протона в  $^1\text{H}$  ЯМР-спектрах конъюгатов 2a (a) и 2b (б)

В обоих конъюгатах сигналы Н-5 пиранозного цикла были представлены двумя сигналами,

соответствующими немодифицированному ( $\delta$  4.79-3.4.81 м.д.) и модифицированному ( $\delta$  5.05 м.д.) звеньям.

Для конъюгата 2c (с п-аминобензойной кислотой) наряду с п-карбоксифениламидными группами обнаружено образование п-карбокси(олигофениламидо)фениламидных групп<sup>6</sup>, о чем свидетельствовали наблюдаемые в  $^1\text{H}$  ЯМР-спектре 4 сигнала различной интенсивности в области  $\delta$  7.57-7.95 м.д. ароматических протонов бензольного кольца (вместо двух сигналов для симметричных пар протонов) (рис. 2).

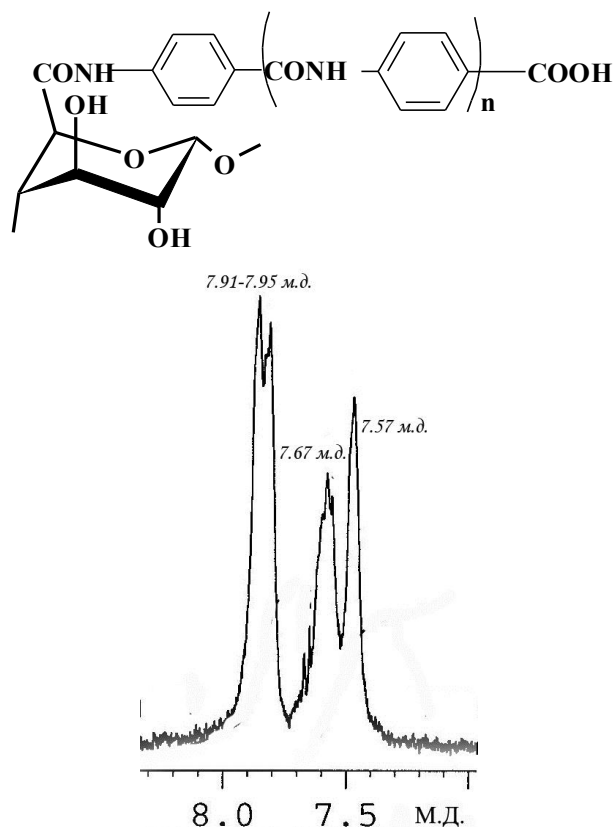
Все спектральные характеристики конъюгатов 2a-g представлены в табл. 2.

## Экспериментальная часть

**Получение натриевой соли ПГК.** 12 г ПГК суспендировали в 250 мл  $\text{H}_2\text{O}$  и при перемешивании постепенно добавляли 2.5 г  $\text{NaOH}$  (в виде 1 н раствора) до образования истинного раствора. Затем добавляли 600 мл  $\text{EtOH}$ , выпавший осадок отделяли центрифугированием и сушили на открытом воздухе. Получили 13.4 г соответствующей  $\text{Na}$  соли в виде водорастворимого порошка с желтоватым оттенком.

## Общая методика получения конъюгатов 2a-g

К смеси 90 мг (0.45 ммоль) ПГК и 0.45 ммоль соответствующего амина в 15 мл  $\text{H}_2\text{O}$  добавляли 0.1 н  $\text{NaOH}$  до pH 4.7-4.8, затем при интенсивном перемешивании и температуре 20-22 $^\circ\text{C}$  вносили 65.35 мг (0.34 ммоль) КДИ, поддерживая pH титрованием 0.1 н  $\text{HCl}$ . Через 60 минут к реакционной смеси



**Рис. 2.** Фрагмент  $^1\text{H}$  ЯМР-спектра конъюгата 2c

Табл. 2. Характеристика конъюгатов ПГК с аминами

Конъюгат	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H <sub>Ar</sub>
ПГК	5.11	3.82	4.03	4.46	4.79	-
2a	5.05	3.85	4.09	4.50	4.81	6.96 (H-3, H-5)
	5.24			4.59	5.05	7.35 (H-2, H-6)
	5.04	3.79	4.03	4.43	4.78	6.92 (H-3, H-5)
	5.15			4.55	5.04	7.30 (H-2, H-6)
2b	5.07 5.21	3.78	4.04	4.42	4.79 5.07	6.89 (H-3)
				4.47		6.94 (H-5)
				4.55		7.17 (H-4)
				4.62		7.60 (H-6)
	5.10 5.23	3.82 3.82	4.06	4.44	4.79 5.09	7.04 (H-3)
				4.51		7.06 (H-5)
				4.58		7.26 (H-4)
				4.65		7.59 (H-6)
2c	5.09 5.23	3.80	4.02	4.45 4.58	4.79 5.09	7.57
						7.67
						7.91
						7.95
2d	5.09 5.24	3.80	4.03	4.44 4.52	4.79 5.09	7.29 (H-4)
						7.57 (H-3)
						7.96 (H-5)
						8.33 (H-2)
2e	5.04 5.21	3.80	4.01	4.43	4.79	7.02 (H-2)
				4.53	5.04	7.12 (H-6)
	5.07 5.21	3.80	4.02	4.43 4.55	4.79 5.07	7.79 (H-5)
						7.04 (H-2)
						7.15 (H-6)
						7.81 (H-5)
2f	5.10	3.85	4.08	4.46	4.79	6.97 (H-3)
				4.56	5.10	7.50 (H-2)
	5.09 5.20	3.82	4.07	4.45 4.54	4.79 5.09	7.80 (H-6)
						6.99 (H-3)
						7.54 (H-2)
						7.80 (H-6)
2g	5.08	-	4.04	4.54	4.79	7.46
	5.18			4.60	5.08	7.64
	5.08	3.83	4.05	4.44	4.78	7.47
	5.20			4.54	5.08	7.65

последовательно добавляли 0,1 н NaOH (до pH=7), 2-3 мл насыщенного раствора NaCl и 30 мл этанола. Выпавший осадок отделяли центрифугированием, промывали EtOH (3 x 10 мл), затем Et<sub>2</sub>O (3 x 10 мл) и сушили. Получили 65-70 мг соответствующего конъюгата в виде белого порошка с розовым или желтым оттенком, растворимого в воде.

### Библиографический список

- 1 Методы химии углеводов. (Под редакцией чл.-корр. АН СССР Кочеткова Н. К.) Москва: Мир, 1967. 508 с.
- 2 Романенко А.И., Деревяго И.Б., Литенко В.А., Ободович А.Н. // Гигиена труда и профзаболевания. 1991. № 12. стр. 1-3.
- 3 Патент № 2160545 РФ. Биологически активный пищевой продукт/ Грехов Г.С. Заявлено 20.04.1999; опубл. 20.12.2000; Бюлл. №12, 2000.
- 4 Патент №2184559 РФ. Противоязвенное средство/ Горбачева А.В.; Аксиненко С.Г.; Пашинский В.Г.; Зеленская К.Л.; Нестерова Ю.В.; Поветьева Т.Н.; Першина О.В. Заявлено 03.01.2001; опубл. 10.07.2002; Бюлл. № 8, 2002.
- 5 Grasdalen H., Andersen A. K., Larsen B. // Carbohydrate Research. 1996. V. 289, P. 105-114.
- 6 Понеделькина И.Ю., Одинокое В.Н., Лукина Е.С., Тюмкина Т.В., Халилов Л.М., Джемилев У.М. // Биоорганическая химия. 2006. Т.32. №5. С. 524-529.